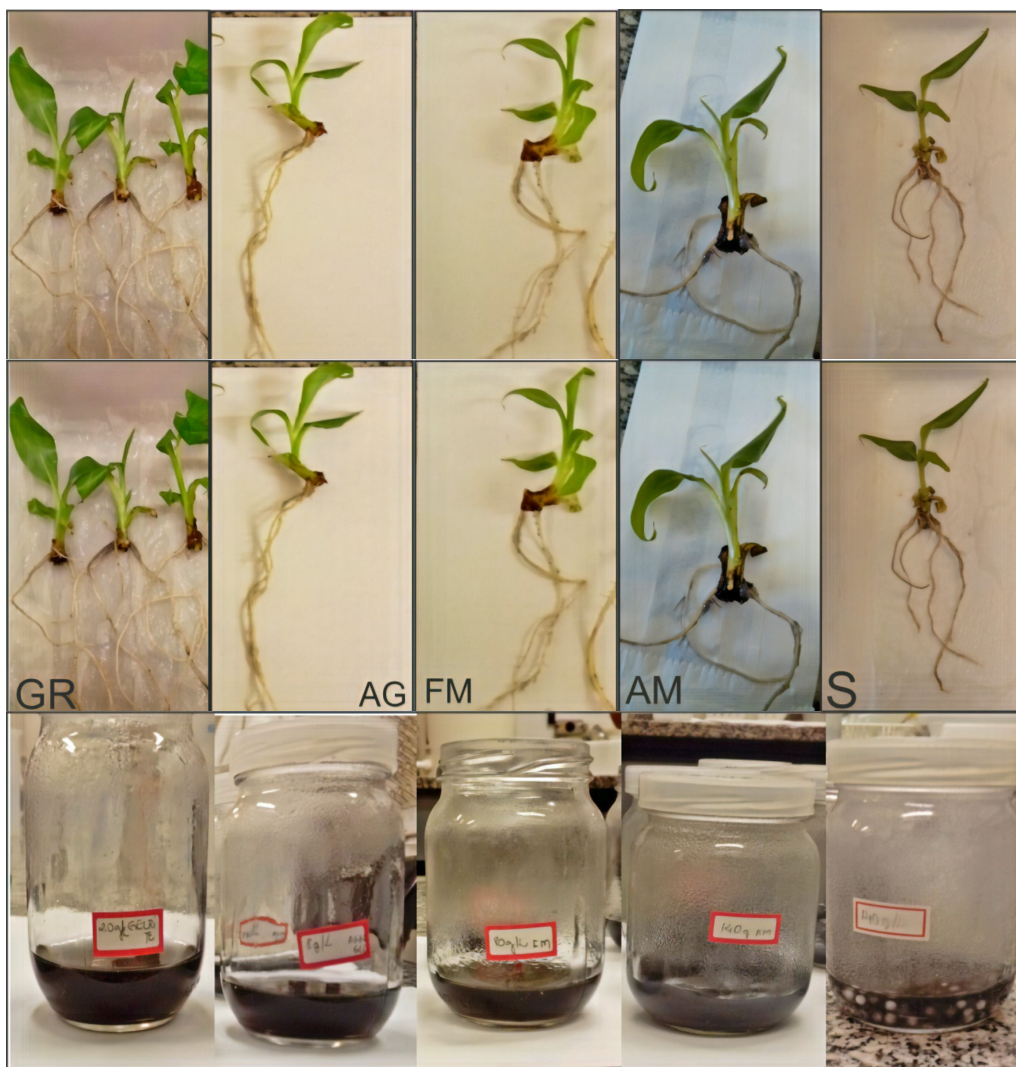




Agentes Gelificantes Alternativos na Micropropagação de Bananeira cv. Prata Catarina



***Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Agroindústria Tropical
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento***

**BOLETIM DE PESQUISA
E DESENVOLVIMENTO
205**

**Agentes Gelificantes Alternativos
na Micropropagação de Bananeira
cv. Prata Catarina**

Halline Maria Garantizado dos Santos
Ana Cristina Portugal Pinto de Carvalho
Fernanda Schneider
Adroaldo Guimarães Rossetti
Arlene Santisteban Campos

***Embrapa Agroindústria Tropical
Fortaleza, CE
2020***

Unidade responsável pelo conteúdo e edição:

Embrapa Agroindústria Tropical
Rua Dra. Sara Mesquita 2270, Pici
CEP 60511-110 Fortaleza, CE
Fone: (85) 3391-7100
Fax: (85) 3391-7109
www.embrapa.br/agroindustria-tropical
www.embrapa.br/fale-conosco

Comitê Local de Publicações
da Embrapa Agroindústria Tropical

Presidente
Gustavo Adolfo Saavedra Pinto

Secretária-executiva
Celli Rodrigues Muniz

Secretária-administrativa
Eveline de Castro Menezes

Membros
*Marlos Alves Bezerra, Ana Cristina Portugal
Pinto de Carvalho, Deborah dos Santos Garruti,
Dheyne Silva Melo, Ana Iraidy Santa Brigida,
Eliana Sousa Ximendes, Nívia da Silva Dias*

Revisão de texto
José Cesamildo Cruz Magalhães

Normalização bibliográfica
Rita de Cassia Costa Cid

Projeto gráfico da coleção
Carlos Eduardo Felice Barbeiro

Editoração eletrônica
José Cesamildo Cruz Magalhães

Fotos da capa
Halline Maria Garantizado dos Santos

1ª edição
On-line (2020)

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte,
constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Embrapa Agroindústria Tropical

Agentes gelificantes alternativos na micropropagação de bananeira cv. Prata Catarina / Ana Cristina Portugal
Pinto de Carvalho... [et al.]. – Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2020.

20 p. : il. ; 16 cm x 22 cm – (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Agroindústria Tropical,
ISSN 1679-6543; 205).

Publicação disponibilizada on-line no formato PDF.

1. *Musa* sp. 2. Meio de cultivo. 3. Agentes gelificantes. 4. Micropropagação. I. Santos, Halline Maria
Garantizado dos. II. Carvalho, Ana Cristina Portugal Pinto de. III. Schneider, Fernanda. IV. Rossetti, Adroaldo
Guimarães. V. Campos, Arlene Santisteban. VI. Série.

CDD 634.772

Sumário

Resumo.....4

Abstract.....6

Introdução.....7

Material e Métodos.....9

Resultados e Discussão.....11

Conclusões.....17

Agradecimentos.....17

Referências.....18

Agentes Gelificantes Alternativos na Micropropagação de Bananeira cv. Prata Catarina¹

Halline Maria Garantizado dos Santos¹

Ana Cristina Portugal Pinto de Carvalho²

Fernanda Schneider³

Adroaldo Guimarães Rossetti⁴

Arlene Santisteban Campos⁵

Resumo - O ágar é o gelificante mais utilizado no preparo de meios de cultivo semissólidos na micropropagação vegetal. Porém, por ser um dos componentes de maior custo, agentes gelificantes alternativos vêm sendo prospectados, razão do objetivo deste trabalho ter sido avaliar o desempenho de mudas micropropagadas de bananeira, cv. Prata Catarina, na fase de alongamento e enraizamento, em meio de cultivo MS contendo diferentes gelificantes alternativos, tais como sagu, fécula de mandioca e amido de milho, produtos encontrados em supermercados. O delineamento experimental usado foi o inteiramente casualizado, com seis repetições e 12 tratamentos, resultantes das combinações de cada gelificante: 1) sagu (S) a 100, 120 e 140 g.L⁻¹; 2) fécula de mandioca (FM) a 120 e 140 g.L⁻¹; 3) amido de milho (AM) a 80, 100, 120 e 140 g.L⁻¹; 4) ágar (AG) a 6,0 e 8,0 g.L⁻¹; e 5) gelrite (GR) a 1,8 g.L⁻¹. Cada repetição foi composta por um frasco contendo cinco explantes. Aos 30 dias, foram mensurados os caracteres altura da muda (AM), diâmetro do pseudocaule (DP), número de folhas (NF) e de raízes (NR), comprimento da maior raiz (CMR), massas frescas da parte aérea (MFPA) e

¹ Engenheira-agrônoma, Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Agro-brasileira (UNILAB), Redenção, CE

² Bióloga, doutora em Genética, pesquisadora da Embrapa Agroindústria Tropical (CNPAT), Fortaleza, CE

³ Engenheira-agrônoma, doutora em Fitotecnia, professora da Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Agro-brasileira (UNILAB), Redenção, CE

⁴ Matemático, doutor em Engenharia e Gestão do Conhecimento, pesquisador da Embrapa Agroindústria Tropical (CNPAT), Fortaleza, CE

⁵ Engenheira-agrônoma, mestra em Engenharia Agrícola, aluna de doutorado do Departamento de Ciência do Solo, Universidade Federal do Ceará (UFC), Fortaleza, CE

das raízes (MFR) e massas secas da parte aérea (MSPA) e de raiz (MSR). Os resultados obtidos indicam que a fécula de mandioca, na concentração de $140,0 \text{ g.L}^{-1}$, pode ser recomendada como agente gelificante alternativo ao ágar na fase de alongamento e enraizamento in vitro de mudas da cultivar Prata Catarina.

Termos para indexação: *Musa* sp., amido de milho, fécula de mandioca, agentes gelificantes, meio de cultivo.

Alternatives Gelling Agents in the Micropropagation of Banana cv. Prata Catarina

Abstract - Agar is the most widely used gelling agent in the preparation of semi-solid culture media in plant micropropagation. However, because it is one of the most costly components, alternative gelling agents have been prospecting. The objective of this work was to evaluate the performance of micropropagated plants of banana, cv. Prata Catarina, in the elongation and rooting phase, in MS culture medium containing different alternative gelling agents, such as sago, cassava starch and corn starch, products found in supermarkets. The experimental design used was completely randomized in six replicates and 12 treatments, resulting from the combinations of each gelling agent: 1) sago (S) at 100, 120 and 140 g.L⁻¹; 2) cassava starch (FM) at 120 and 140 g.L⁻¹; 3) corn starch (AM) at 80, 100, 120 and 140 g.L⁻¹; 4) agar (AG) at 6.0 and 8.0 g.L⁻¹; and, 5) gelrite (GR) at 1.8 g.L⁻¹, each composed of a flask containing five explants. At 30 days, the characters plant height (AM), pseudostem diameter (DP), number of leaves (NF) and roots (NR), length of the largest root (CMR), fresh masses of the aerial part (MFPA) were measured) and roots (MFR) and dry shoots (MSPA) and roots (MSR). The results obtained show that cassava in 140.0 g.L⁻¹ can be recommended as alternative gelling agent to agar for Prata Catarina cultivar plantlets in in vitro elongation and rooting phase.

Index terms: *Musa* sp., maize starch, cassava starch, gelling agents, culture medium.

Introdução

Dentro do cenário da agricultura mundial, a fruticultura tem se destacado por meio do aumento significativo da produtividade e modernização das tecnologias, gerando emprego e renda. Entre as fruteiras, a bananeira possui grande importância econômica nos países tropicais. O fruto é o mais consumido in natura no Brasil e no mundo por ser muito apreciado pelo sabor, pela facilidade de consumo, pelo baixo custo e também por ser fonte de vitaminas, sais minerais e açúcares, gerando benefícios para saúde (Oliveira et al., 2018).

Em 2018, os maiores produtores de banana foram Índia, China, Indonésia e Brasil, nesta ordem. A produção brasileira alcançou 6,7 milhões de toneladas, representando 5,8% da mundial (Faostat, 2017). Nesse mesmo ano, a região Nordeste registrou 33,74% da produção nacional (Embrapa, 2018).

Entre as cultivares de bananeira, a ‘Prata Catarina’ surge como uma alternativa à ‘Prata Anã’ devido à alta resistência ao frio e vento, razoável tolerância à murcha de *Fusarium* ou ao mal-do-Panamá e à maior produtividade (Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina, 2015).

Nos sistemas de cultivo da bananeira, o uso de mudas micropropagadas vem sendo uma prática crescente entre os produtores (Prabhuling et al., 2014) em razão de apresentarem vantagens em relação às obtidas pelos métodos convencionais de propagação vegetativa, tais como alta taxa de multiplicação, uniformidade fisiológica e material propagativo livre de doenças e pragas (Govindaraju et al., 2012). Entretanto, os altos preços das mudas dificultam o acesso da tecnologia, em especial pelos pequenos agricultores (Rakshi et al., 2017).

A micropropagação consiste na propagação vegetativa in vitro, sob condições assépticas, em ambiente controlado e uso de meio de cultivo adequado. Os meios nutritivos podem ser utilizados na forma líquida ou semissólida. Na forma semissólida, a substância com ação gelificante mais utilizada é o ágar (Rakshi et al., 2017). Essa substância é um hidrocoloide extraído de algas marinhas vermelhas composto por dois polissacarídeos, agarose e agarpectina (Carvalho et al., 2011), que confere consistência e suporte para as culturas (Quisen; Angelo, 2008). Apesar de ser um dos

componentes de maior valor do meio de cultivo (Costa et al., 2013), segundo George (2008), apresenta a vantagem de formar um coloide quando adicionado à água, tornando-se líquido a 100 °C e solidificando-se a 45 °C, mantendo-se estável nas temperaturas utilizadas nas salas de incubação, de 25 °C a 30 °C (Souza et al., 2006).

Além do ágar, outros agentes gelificantes utilizados com frequência nos meios de cultivo são as gomas de gelan, comercializadas com os nomes de gelrite e phytigel (Santos-Serejo et al., 2006). Esses produtos são polissacarídeos naturais produzidos pela bactéria *Pseudomonas elodea*. Eles têm como unidade repetitiva um tetrassacarídeo composto de duas unidades de D-glicose, um resíduo de L-ramnose e um do ácido D-glucurônico, formando um gel mais translúcido, possibilitando a observação do material vegetal e de possíveis contaminantes com maior facilidade (Carvalho et al., 2011).

As pesquisas voltadas para a substituição parcial ou total do ágar como agente gelificante, em meios de cultivo para a propagação *in vitro*, têm gerado resultados promissores, principalmente no que diz respeito ao uso de amidos, uma vez que apresentam menor custo e são facilmente adquiridos e extraídos, em relação às gomas (Gordo et al., 2012). Esses autores ressaltam que os amidos podem ser modificados com o objetivo de desempenhar propriedades funcionais específicas, conferindo maior eficiência na micropropagação de plantas, como único agente gelificante, ou em combinação com ágar, reduzindo os custos dos meios de cultivo em até 70% em comparação com o ágar, embora, fisiologicamente, os melhores resultados sejam obtidos nas substituições parciais.

O uso de agentes de baixo custo, como alguns amidos ou gomas vegetais em substituição ao ágar, tem apresentado resultados promissores na micropropagação de abacaxizeiro comestível (Costa et al., 2007; Pereira et al., 2015), bananeira (Costa et al., 2007; Prabhuling et al., 2014; Saraswathi et al., 2016), batata (Mohamed et al., 2010), batata-doce (Navarro, 2017), cactáceas (Santos, 2018), celósia (Daud et al., 2011), cúrcuma (Jain; Yadav, 2016), lulo (Martín et al., 2013), mandioca (Navarro, 2017; Romay et al., 2006), orquídeas (Soares et al., 2014) e violeta africana (Santos, 2014; Sharifi et al., 2011). Entre as vantagens citadas desses polímeros, além do baixo custo, consta a facilidade de aquisição em mercados locais, quando comparadas

com as do ágar, bem como maior eficiência econômica dos laboratórios de produção de mudas micropropagadas em larga escala (Santos, 2014).

Na produção de mudas micropropagadas de bananeira, o ágar tem sido substituído, em parte ou totalmente, por vários agentes gelificantes alternativos, tais como: fécula de mandioca (Costa et al., 2007), sagu e isabgol (Prabhuling et al., 2014; Saraswathi et al., 2016), semolina e amidos de mandioca, milho, trigo e arroz (Prabhuling et al., 2014), adicionados ao meio de cultivo, isoladamente ou em combinação com ágar, visando à redução de custos.

Em vista disso, este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar o desempenho de mudas micropropagadas de bananeira cv. Prata Catarina na fase de alongamento e enraizamento em meios de cultivo adicionados de agentes gelificantes alternativos em relação aos convencionais.

Material e Métodos

O experimento foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais, da Embrapa Agroindústria Tropical, em Fortaleza, CE, no período de agosto a novembro de 2018.

O material vegetal utilizado, brotações de bananeira cv. Prata Catarina sob condições *in vitro*, foi cedido pela empresa Bioclone Produção de Mudas Ltda., localizada no município de Eusébio, CE. Essas brotações, obtidas a partir do cultivo *in vitro* de ápices caulinares, estavam sendo multiplicadas em meio de cultivo MS (Murashige; Skoog, 1962) adicionado de 5,0 mg.L⁻¹ de 6-benzilaminopurina (BAP) durante cinco subcultivos sucessivos.

Para a implantação do experimento, foram individualizadas e selecionadas as brotações com parte aérea desenvolvida (contendo de 2 a 3 folhas) e com aproximadamente de 2,0 cm de altura. Após a retirada do excesso de raízes e dos tecidos oxidados, essas brotações foram transferidas para o meio de cultivo MS, suplementado com 30 g.L⁻¹ de sacarose, 2,0 g.L⁻¹ de carvão ativo e 0,01 mg.L⁻¹ de ácido naftalenoacético (ANA) (Carvalho et al., 2012).

Em ensaio preliminar, os três agentes gelificantes alternativos escolhidos (sagu, amido de milho e fécula de mandioca) foram avaliados quanto à concentração (80 g.L⁻¹, 100 g.L⁻¹, 120 g.L⁻¹ e 140 g.L⁻¹) em função da

solidificação do meio de cultivo, de forma a selecionar concentrações com boa consistência para sustentação das brotações, em comparação à firmeza do ágar na concentração de 6,0 g.L⁻¹.

Após ajuste do pH para $5,7 \pm 0,1$ e dissolução dos agentes gelificantes dos meio de cultivo, foram distribuídos 30 mL de cada meio em frascos de vidro transparente com capacidade de 220 mL. Os frascos contendo os meios de cultivo foram autoclavados a 121 °C durante 15 minutos. Para o sagu, o produto foi imerso em água destilada durante 30 minutos, antes da elaboração do meio de cultivo, de acordo com a recomendação especificada na embalagem para preparo de alimentos.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com seis repetições e 12 tratamentos resultantes das combinações de: 1) sagu nas concentrações 100 g.L⁻¹, 120 g.L⁻¹ e 140 g.L⁻¹; 2) amido de milho nas concentrações 80 g.L⁻¹, 100, g.L⁻¹ 120 g.L⁻¹ e 140 g.L⁻¹; 3) fécula de mandioca nas concentrações 120 g.L⁻¹ e 140 g.L⁻¹; 4) ágar nas concentrações 6,0 g.L⁻¹ e 8,0 g.L⁻¹; e gelrite a 1,8 g.L⁻¹. Cada repetição foi composta por um frasco contendo cinco brotações, totalizando 30 brotações/tratamento. O meio de cultivo adicionado de ágar na concentração de 6,0 g.L⁻¹ é o empregado pela Bioclone Produção de Mudanças Ltda. na produção de mudas micropropagadas de bananeira em larga escala.

As culturas foram mantidas em sala de crescimento a 24 °C \pm 1 °C, sob fotoperíodo de 16 h de luz e irradiação de 30 $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$. Aos 30 dias após o cultivo in vitro, as mudas foram avaliadas pelas características: altura (AM - distância entre o colo até a inserção da folha mais nova), diâmetro do pseudocaule (DP - na região do colo), número de folhas totalmente expandidas (NF), número de raízes (NR - que se formaram diretamente a partir do rizoma da muda), comprimento da maior raiz (CMR), massas frescas da parte aérea (MFPA) e da raiz (MFR) e massas secas da parte aérea (MSPA) e da raiz (MSR). A massa seca foi determinada mantendo-se essas partes da muda em estufa a 65 °C durante 72 horas.

Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F ($p < 0,05$), seguido da comparação das médias dos tratamentos pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o programa Sisvar (Ferreira, 2011).

Resultados e Discussão

No presente estudo, os agentes gelificantes tiveram influência significativa na fase de alongamento e enraizamento *in vitro* de mudas de bananeira cv. Prata Catarina, sendo observadas diferenças entre eles para todas as características avaliadas (Tabela 1).

Entretanto, considerando-se que o gelrite e ágar são as substâncias gelificantes convencionais utilizadas na micropropagação, constatou-se que as mudas alongadas e enraizadas nesses meios de cultivo não diferiram estatisticamente daquelas desenvolvidas na presença de determinados agentes gelificantes alternativos testados para as características avaliadas (Tabela 2).

Considerando-se que o ágar é o gelificante mais utilizado no preparo de meios de cultivo semissólidos na micropropagação vegetal, constatou-se que as mudas crescidas nos meios de cultivo suplementados com as duas concentrações testadas, 6,0 g.L⁻¹ e 8,0 g.L⁻¹, não diferiram daquelas mantidas no meio estabelecido com gelrite, exceto para as características número de folhas e massa seca da parte aérea (Tabela 2). Isso ratifica o uso desses dois tipos de agentes gelificantes como os mais empregados na produção de mudas micropropagadas, por apresentarem desempenho similar.

Quanto à altura da muda (AM), o maior valor foi registrado no meio adicionado de 6,0 g.L⁻¹ de ágar, 37,64 mm, diferindo comparativamente do meio contendo esta mesma substância na concentração de 8,0 g.L⁻¹ e de todos os outros agentes gelificantes testados (Tabela 2). A altura média das mudas micropropagadas da cv. Grande Naine, cultivadas no mesmo meio de cultivo e concentração igual de ágar, foi de 36,80 mm (Prabhuling et al., 2014), valor muito semelhante ao registrado para cv. Prata Catarina no presente estudo.

Comparando-se as alturas das mudas desenvolvidas nos meios de cultivo contendo ágar ou gelrite com aquelas obtidas nos meios adicionados dos demais agentes gelificantes, embora os valores tenham sido inferiores, não diferiram estatisticamente quando cultivadas na presença de fécula de mandioca nas concentrações de 120,0 g.L⁻¹ e 140,0 g.L⁻¹ e de amido de milho a 140,0 g.L⁻¹.

Tabela 1. Análise de variância dos tratamentos para as características altura da muda (AM), diâmetro do pseudocaule (DP), número de folhas/muda (NF), número de raízes/muda (NR), comprimento da maior raiz (CMR), massa fresca da parte aérea (MFPA), massa fresca da raiz (MFR), massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca da raiz (MSR) de mudas de banana cv. Prata Catarina, alongadas e enraizadas em meios de cultivo contendo agentes gelificantes em concentrações diferentes, aos 30 dias de cultivo in vitro.

Fonte de variação	Quadrado médio									
	AM	DP	NF	NR	CMR	MFPA	MFR	MSPA	MSR	
Tratamento	60,7651**	1,7084**	0,9614**	2,8106**	50,3445**	0,3917**	0,1802**	0,0020**	0,0009**	
Erro	11,1752	0,4019	0,2570	0,3978	5,4457	0,0670	0,0348	0,0003	0,0002	
C.V. (%)	10,99	10,72	10,88	21,42	17,13	17,70	28,82	17,10	27,88	
Média geral	30,41	5,91	4,66	2,94	13,63	1,46	0,65	0,11	0,05	

** Significativo pelo teste F a p < 1% de probabilidade.

Tabela 2. Comparação das médias dos tratamentos pelas características altura da muda (AM), diâmetro do pseudocaule (DP), número de folhas/muda (NF), número de raízes/muda (NR), comprimento da maior raiz (CMR), massa fresca da parte aérea (MFPA), massa fresca da raiz (MFR), massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca da raiz (MSR) de mudas de bananeira cv. Prata Catarina, alongadas e enraizadas em meios de cultivo contendo agentes gelificantes em concentrações diferentes, aos 30 dias de cultivo in vitro.

Agente gelificante ¹ (concentração g.L ⁻¹)	AM (mm)	DP (mm)	NF	NR	CMR (mm)	MFPA (g)	MFR (g)	MSPA (g)	MSR (g)
GR (1,8)	33,20 b	6,84 a	4,90 b	3,47 b	16,88 a	1,67 a	0,78 a	0,12 b	0,05 b
AG (6,0)	37,64 a	6,14 b	5,57 a	4,37 a	16,87 a	1,99 a	0,68 a	0,14 a	0,03 c
AG (8,0)	31,51 b	6,89 a	4,47 c	2,87 b	16,83 a	1,59 a	0,61 a	0,10 c	0,05 b
FM (120,0)	33,86 b	5,87 c	4,95 b	3,10 b	11,98 b	1,70 a	0,87 a	0,12 b	0,07 a
FM (140,0)	31,27 b	6,21 b	4,84 b	3,52 b	9,26 c	1,69 a	0,62 a	0,11 b	0,05 b
AM (80,0)	27,54 c	5,56 c	4,53 c	2,07 c	11,17 b	1,20 b	0,76 a	0,10 c	0,06 a
AM (100,0)	29,02 c	5,81 c	4,40 c	2,80 b	12,83 b	1,23 b	0,63 a	0,08 c	0,04 c
AM (120,0)	27,46 c	5,80 c	4,47 c	2,27 c	9,17 c	1,35 b	0,93 a	0,09 c	0,06 a
AM (140,0)	31,18 b	5,74 c	4,87 b	3,10 b	15,37 a	1,45 b	0,39 b	0,12 b	0,05 b
SA (100,0)	29,00 c	5,67 c	4,77 b	2,93 b	13,45 b	1,40 b	0,76 a	0,11 b	0,06 a
SA (120,0)	27,04 c	5,29 c	3,97 c	1,83 c	16,75 a	1,32 b	0,38 b	0,12 b	0,06 a
SA (140,0)	27,46 c	5,16 c	4,33 c	3,17 b	11,67 b	1,09 b	0,45 b	0,10 c	0,07 a
C.V.	10,99	10,72	10,88	21,42	17,13	17,70	28,82	17,10	27,88

^aMédias seguidas de mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Scott-Knott (p < 0,05).

¹GR: gelrite; AG: ágar; FM: fécula de mandioca; AM: amido de milho; e SA: sagu.

Em relação aos meios de cultivo contendo sagu, independentemente da concentração utilizada, as mudas apresentaram redução significativa da altura, em relação aos adicionados de ágar ou gelrite, sendo registrados valores de altura de 27,04 mm a 29,0 mm (Tabela 2). Entretanto, Prabhuling et al. (2014) obtiveram resultados contrários, isto é, as mudas de Grande Naine alongadas e enraizadas nos meios suplementados com sagu apresentaram valores superiores, de 40,20 a 47,80 mm. Essas diferenças nas alturas das mudas da cv. Grande Naine, em comparação com as da cv. Prata Catarina, são possivelmente em razão das diferenças genotípicas e das condições de cultivo *in vitro*.

Em relação ao diâmetro do pseudocaule (DP), as mudas desenvolvidas no meio de cultivo suplementado com fécula de mandioca na concentração de 140,0 g.L⁻¹ (6,21 mm) diferiram significativamente daquelas crescidas nos meios adicionados de gelrite (6,84 mm) e ágar na concentração de 8,0 g.L⁻¹ (6,89 mm), mas não na concentração de 6,0 g.L⁻¹ (6,14 mm). Para cv. Grande Naine, Prabhuling et al. (2014) obtiveram mudas com diâmetro do pseudocaule de 3,93 mm no meio de cultivo contendo 6,0 g.L⁻¹ de ágar, valor inferior ao registrado para cv. Prata Catarina nesse mesmo meio de cultivo e igual concentração de ágar, 6,14 mm.

Os menores valores para o diâmetro do pseudocaule foram verificados nos meios de cultivo suplementados com fécula de mandioca na concentração de 120,0 g.L⁻¹ e com amido de milho e sagu, independentemente da concentração testada (Tabela 2). Resultados contrários foram registrados por Prabhuling et al. (2014) para as mudas da cv. Grande Naine alongadas no meio suplementado com sagu. Esses autores constataram que as mudas mantidas no meio de cultivo adicionado de 140,0 g.L⁻¹ de sagu apresentaram DP maior (4,50 mm) do que daquelas desenvolvidas no meio contendo ágar na concentração de 6,0 g.L⁻¹ (3,93 mm). No presente estudo, as mudas da cv. Prata Catarina mantidas no meio suplementado com sagu na concentração de 140,0 g.L⁻¹ apresentaram DP menor (5,16 mm) do que daquelas desenvolvidas no meio contendo ágar na concentração de 6,0 g.L⁻¹ (6,14 mm). Essa variação no diâmetro do pseudocaule da cv. Grande Naine, em comparação com o da cv. Prata Catarina, provavelmente deve-se tanto às diferenças entre os genótipos como às das condições de cultivo *in vitro*.

O maior número de folhas (NF) foi obtido nas mudas alongadas e enraizadas no meio de cultivo contendo ágar na concentração de $6,0 \text{ g.L}^{-1}$, registrando-se aproximadamente seis folhas/muda (Tabela 2).

Nos meios de cultivo suplementados com gelrite, fécula de mandioca ($120,0 \text{ g.L}^{-1}$ e $140,0 \text{ g.L}^{-1}$), amido de milho (140 g.L^{-1}) e sagu ($100,0 \text{ g.L}^{-1}$), as mudas alongadas e enraizadas de cv. Prata Catarina apresentaram, aos 30 dias de avaliação, cerca de cinco folhas/muda. Enquanto que aquelas que permaneceram nos meios suplementados com ágar na concentração de $8,0 \text{ g.L}^{-1}$, amido de milho, nas menores concentrações testadas ($100,0 \text{ g.L}^{-1}$ e 120 g.L^{-1}) e com sagu, nas maiores concentrações ($120,0 \text{ g.L}^{-1}$ e 140 g.L^{-1}), registraram os menores valores para esta variável, em torno de quatro folhas/muda.

Prabhuling et al. (2014) constataram que nos meios adicionados de fécula de mandioca ($120,0 \text{ g.L}^{-1}$ e $140,0 \text{ g.L}^{-1}$) e de amido de milho ($140,0 \text{ g.L}^{-1}$), as mudas de Grande Naine apresentaram apenas duas folhas/muda. O número menor de folhas da cv. Grande Naine, em comparação com a cv. Prata Catarina, provavelmente é devido às diferenças entre os genótipos e suas interações com as condições de cultivo in vitro.

O maior número de raízes (4,37) foi alcançado nas mudas alongadas e enraizadas no meio de cultivo contendo ágar na concentração de $6,0 \text{ g.L}^{-1}$, diferindo dos valores registrados para os demais tratamentos (Tabela 2). Entretanto, os NR obtidos nos meios de cultivo adicionados desta mesma substância na maior concentração testada ($8,0 \text{ g.L}^{-1}$) e de gelrite não diferiram daqueles na presença dos agentes gelificantes alternativos fécula de mandioca ($120,0 \text{ g.L}^{-1}$ e $140,0 \text{ g.L}^{-1}$), amido de milho e sagu ($100,0 \text{ g.L}^{-1}$ e $140,0 \text{ g.L}^{-1}$).

Quanto ao comprimento da maior raiz (CMR), as mudas apresentaram crescimento radicular similar, comparando-se os meios de cultivo suplementados com gelrite, ágar a $6,0$ e $8,0 \text{ g.L}^{-1}$, sagu a $120,0 \text{ g.L}^{-1}$ e amido de milho a $140,0 \text{ g.L}^{-1}$ (Tabela 2). Menor crescimento das raízes foi constatado nos tratamentos com fécula de mandioca e amido de milho, nas concentrações de $140,0 \text{ g.L}^{-1}$ e $120,0 \text{ g.L}^{-1}$, respectivamente. Essa redução do comprimento da maior raiz pode ser atribuída ao aumento da firmeza do meio de cultivo contendo a fécula de mandioca (Prabhuling et al., 2014). Altas concentrações de agentes gelificantes podem limitar a difusão de nutrientes

presentes no meio de cultivo até o explante, acarretando a redução do seu desenvolvimento (Caldas et al., 1998). As raízes, por estarem diretamente em contato com o meio de cultivo, são muito influenciadas pela sua consistência física (Junghans et al., 2013).

Quanto à massa fresca da parte aérea (MFPA), as mudas desenvolvidas no meio de cultivo adicionado de $6,0 \text{ g.L}^{-1}$ de ágar apresentaram os maiores valores (1,99 g), não diferindo estatisticamente daquelas mantidas nos meios adicionados de gelrite (1,67 g), fécula de mandioca (1,69 g – 1,70 g) e ágar na concentração de $8,0 \text{ g.L}^{-1}$ (1,59 g) (Tabela 2).

Já as mudas alongadas e enraizadas no meio de cultivo contendo $6,0 \text{ g.L}^{-1}$ de ágar não diferiram quanto à massa fresca da raiz (MFR), exceto dos meios adicionados de amido de milho na concentração de $140,0 \text{ g.L}^{-1}$ e sagu nas concentrações de $120,0 \text{ g.L}^{-1}$ (Tabela 2).

Nas mudas da cultivar Grande Naine desenvolvidas no meio de cultivo suplementado com $6,0 \text{ g.L}^{-1}$ de ágar, Prabhuling et al. (2014) registraram 2,31 g de massa fresca da muda, valor inferior ao registrado para cv. Prata Catarina, 2,67 g (MFPA: 1,99 g + MFR: 0,68 g). Nos meios de cultivo suplementados com fécula de mandioca, as mudas de Grande Naine apresentaram MFPA de 2,32 g e 1,48 g, nas concentrações de $120,0 \text{ g.L}^{-1}$ e $140,0 \text{ g.L}^{-1}$, respectivamente (Prabhuling et al., 2014). Comparando-se esses dados com os obtidos no presente estudo para 'Prata Catarina', 2,57 g e 2,31 g, nas mesmas concentrações de fécula de mandioca, constata-se que eles foram maiores, sendo estas diferenças provavelmente devido ao genótipo e às condições de cultivo.

O maior valor para massa seca da parte aérea (MSPA) foi registrado nas mudas desenvolvidas no meio de cultivo contendo $6,0 \text{ g.L}^{-1}$ de ágar, 0,14 g, diferindo dos demais tratamentos testados (Tabela 2). Comparando-se o desempenho das mudas no meio de cultivo adicionado de ágar $6,0 \text{ g.L}^{-1}$ com os demais, verificou-se que houve redução da massa seca da parte aérea em todos os tratamentos estudados, em especial para ágar $8,0 \text{ g.L}^{-1}$, amido de milho ($80,0 \text{ g.L}^{-1}$, $100,0 \text{ g.L}^{-1}$ e $120,0 \text{ g.L}^{-1}$) e sagu (140 g.L^{-1}).

Embora as mudas desenvolvidas no meio de cultivo contendo $6,0 \text{ g.L}^{-1}$ tenham apresentado o maior valor para a MSPA, elas registraram a menor massa seca da raiz, 0,03 g. Para a MSR, destacaram-se os tratamentos:

fécula de mandioca ($120,0 \text{ g.L}^{-1}$), amido de milho ($80,0 \text{ g.L}^{-1}$ e $120,0 \text{ g.L}^{-1}$) e sagu ($120,0 \text{ g.L}^{-1}$ e 140 g.L^{-1}) (Tabela 2). De uma forma geral, tendo-se como base os valores obtidos para a maioria das características avaliadas, qualquer um dos agentes testados poderia ser utilizado em substituição ao gelrite e ágar nas concentrações estudadas. Entretanto, é importante ressaltar que, na produção de mudas micropropagadas de bananeira, a etapa posterior ao alongamento e enraizamento *in vitro* é a aclimatização. Nessa fase, as mudas são cuidadosamente retiradas dos frascos de cultivo, lavadas abundantemente com água corrente, até que todo o meio de cultura tenha sido retirado e o sistema radicular podado, deixando-se as mudas com raízes de 1,0 cm de comprimento. Segundo Carvalho et al. (2012), esse procedimento, além de facilitar o plantio da muda no substrato, estimula o desenvolvimento de novas raízes.

Sendo assim, tendo em vista que as raízes das mudas micropropagadas de bananeira são podadas na etapa de aclimatização, as características de maior importância na sobrevivência das mudas são aquelas relacionadas à parte aérea, tais como: altura da muda (AM), diâmetro do pseudocalule (DP), número de folha (NF) e massas fresca (MFPA) e seca da parte aérea (MSPA).

Conclui-se que o tratamento com fécula de mandioca na concentração de $140,0 \text{ g.L}^{-1}$ é o mais indicado como agente gelificante alternativo ao ágar.

Conclusões

A fécula de mandioca pode ser utilizada como agente gelificante na fase de alongamento e enraizamento *in vitro* de mudas de bananeira cv. Prata Catarina, em substituição ao ágar.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Bioclone Produção de Mudas Ltda. por ceder as mudas *in vitro* para a realização deste trabalho; à Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Agro-brasileira (UNILAB) pela concessão do aluno; e à Embrapa Agroindústria Tropical (CNPAT) pelo auxílio à pesquisa.

Referências

- CALDAS, L. S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, M. E. Meios nutritivos. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília, DF: Embrapa-SPI: Embrapa-CNPq, 1998-1999. v. 1, p. 87-132, 1998.
- CARVALHO, A. C. P. P. de; TORRES, A. C.; BRAGA, E. J. B.; LEMOS, E. E. P. de; SOUZA, F. V. D.; PETERS, J. A.; WILLADINO, L.; CÂMARA, T. R. Glossário de cultura de tecidos de plantas. **Plant Cell Culture & Micropropagation**, Lavras, v. 7, n. 1, p. 30-60, 2011.
- CARVALHO, A. C. P. P. de; RODRIGUES, A. A. de J.; SANTOS, E. de O. **Produção de mudas micropropagadas de bananeira**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2012. 14 p. (Embrapa Agroindústria Tropical. Circular técnica, 37).
- COSTA, F. H. da S.; PEREIRA, M. A. A.; OLIVEIRA, J. P. de; PEREIRA, J. E. S. Efeito de agentes geleificantes alternativos no meio de cultura no cultivo in vitro de abacaxizeiro e bananeira. **Revista Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 1, p. 41-46, 2007.
- COSTA, M. A. P. de C.; BASTOS, M. J. S. M.; ROCHA, M. A.; HANSEN, D. de S.; ALVES, R. M. de O.; SOUZA, E. H. de; GARCIA, R. R. Micropropagação orquídea. In: JUNGHANS, T. G.; SOUZA, A. da S. (Ed.). **Aspectos práticos da micropropagação de plantas**. 2. ed. rev. e ampl. Brasília, DF: Embrapa, 2013. 407 p. Capítulo 8, p. 373-392.
- DAUD, N.; TAHA, R. M.; NOOR, N. N. M.; ALIMON, H. Potential of alternative gelling agents in media for the in vitro micro-propagation of *Celosia* sp. **International Journal of Botany**, v. 7, n. 2, p. 183-188, 2011.
- EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Tabela – Produção brasileira de Banana em 2017**. Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, BA, 2018, 4p. Disponível em: <http://www.cnpmf.embrapa.br/Base_de_Dados/index_pdf/dados/brasil/banana/b1_banana.pdf>. Acesso em: 09 dez. 2019.
- EMPRESA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA E EXTENSÃO RURAL DE SANTA CATARINA. **SCS451 Catarina (Prata Catarina): cultivar de bananeira do subgrupo Prata selecionada em Santa Catarina**. Itajaí: Itajaí: EPAGRI/Estação Experimental de Itajaí, 2015. 4 p. Folder.
- FAOSTAT – **Food and agriculture organization of the United Nations statistics**, 2017. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>>. Acesso em: 05 maio 2020.
- FERREIRA D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.
- GEORGE, E. F.; HALL, M. A.; KLERK, G. D. **Plant propagation by tissue culture**. Dordrecht: Springer, 2008. 501 p.

GORDO, D. A. M.; GONZALES, O. C.; PACHECO, J. C. Sustancias utilizadas como agente gelificante alternativas al agar en medios de cultivo para propagación in vitro. **Revista de Investigación Agraria y Ambiental**, v. 3, n. 2, p. 49-62, 2012.

GOVINDARAJU, S.; SARAVANAN, J.; JAYANTHI, B.; NANCY, D.; INDRAARULSELVI, P. In vitro propagation of Banana (*Musa* sp. - Rasthali variety) from sword suckers for its commercial production. **Research in Plant Biology**, India, v. 2, n. 5, p. 01-06, 2012.

JAIN, A.; YADAV, R. P. Influence of gelling agent on micropropagation cost and in vitro conservation of turmeric (*Curcuma longa*) germplasm. **Journal of AgriSearch**, v. 3, n. 4, p. 212-216, 2016.

JUNGHANS, T. G.; SOUZA, A. da S.; SANTOS-SEREJO, J. A. dos; SOUZA, F. V. D. Redução de custos na micropropagação. In: JUNGHANS, T. G.; SOUZA, A. da S. (Ed.). **Aspectos práticos da micropropagação de plantas**. 2. ed. rev. e ampl. Brasília, DF: Embrapa, 2013. 407 p. Capítulo 6, p. 165-187.

MARTÍN, D.; CÁRDENAS, O.; CÁRDENAS, A. Almidón de papa, agente gelificante alternativo en medios de cultivo para propagación in-vitro de lulo *Solanum quitoense* Lam. **Revista de Ciencias Agrícolas**, v. 30, n. 1, p. 03-11, 2013.

MOHAMED, M. A. H.; ALSADON, A. A.; AL MOHAIDIB, M. S. Corn and potato starch as an agar alternative for *Solanum tuberosum* micropropagation. **African Journal of Biotechnology**, v. 9, n. 1, p. 12-16, 2010.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v. 15, p. 473-497, 1962.

NAVARRO, F. R. G. **Almidones usados como agentes gelificantes en reemplazo de Phytigel® en medios de cultivo para tejidos vegetales**. 2017. 17 f. Proyecto especial (Graduação em Agronomia) - Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras.

OLIVEIRA, J. A. A.; BRUCKNER, C. H.; SILVA, D. F. da P. **Estado atual da bananicultura em Minas Gerais**. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2018. 11 p. Disponível em: <<https://www.todafruta.com.br/wp-content/uploads/2018/05/BANANA.pdf>>. Acesso em: 09 dez. 2019.

PEREIRA, M. R.; CARVALHO, V. S.; LUCAS, E. de F.; GRAVINA, G. de A. Amido de milho e hipoclorito de sódio no enraizamento in vitro do abacaxizeiro Vitória e seu efeito na aclimatização. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 37, n. 2, p. 528-533, 2015

PRABHULING, G.; MASTIHLI, A. B.; KERUTAGI, M. G.; Low-cost gelling agents for micro-propagation of banana (*Musa acuminata*) cv. 'GRANDE NAIN'. **International Journal of Plant Sciences**, v. 9, n. 1, p. 46-51, 2014.

QUISEN, R. C.; ANGELO, P. C. da S. **Manual de procedimentos do Laboratório de Cultura de Tecidos da Embrapa Amazônia Ocidental**. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2008.

44 p. (Embrapa Amazônia Ocidental. Documentos, 61). Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/47132/1/Doc-61-A5.pdf>>. Acesso em: 09 dez. 2019.

RAKSHI, M.; SUBBAIAH, K. V.; PRABHULING, G.; SWAMY, G. S. K.; JHOLGIKER, P. A review on low cost micro propagation techniques in banana. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, SP1: 357-359, 2017.

ROMAY, G.; MATEHUS, J.; GERSTL, A.; RUEDA, R.; SANTANA, M. A. Almidón modificado de yuca como sustituto económico del agente solidificante para medios de cultivo de tejidos vegetales. **Interciencia**, Caracas, v. 31, n. 9, p. 686-689, 2006.

SANTOS, J. C. dos. **Meios alternativos para cultivo in vitro de violeta africana (*Saintpaulia* spp.) e efeito de descontaminantes no cultivo in vitro de palma forrageira (*Nopalea cochenilifera* Salm-Dyck)**. 2014. 68 f. Monografia (Graduação em Agronomia) - Centro de Ciências Agrárias. Universidade Federal da Paraíba. Areia.

SANTOS, J. E. L. dos. **Efeito de agentes geleificantes e meio simplificado na germinação in vitro de *Cereus jamacaru* e *Pilosocereus pachycladus***. 2018. 37 f. Monografia (Graduação em Agronomia) – Centro de Ciências Agrárias. Universidade Federal da Paraíba, Areia.

SANTOS-SEREJO, J. A. dos; JUNGHANS, T. G.; SOARES, T. L.; SILVA, K. M. da. Meios nutritivos para micropropagação de plantas. In: SOUZA, A. da S.; JUNGHANS, T. G. (Ed.). **Introdução à micropropagação de plantas**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 2006. 152 p. Capítulo 4, p. 79-98.

SARASWATHI, M. S.; UMA, S.; KANNAN, G.; SELVASUMATHI, M.; MUSTAFFA, M. M.; BACKIYARANI, S. Cost-effective tissue culture media for large-scale propagation of three commercial banana (*Musa* spp.) varieties. **The Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v. 91, n. 1, p. 23-29, 2016.

SHARIFI, A.; MOSHTAGHI, N.; BAGHERI, A. Agar alternatives for micropropagation of African violet (*Saintpaulia ionantha*). **African Journal of Biotechnology**, v. 9, n. 54, p. 9199-9203, 2011.

SOARES, J. S.; ROSA, Y. B. C. J.; SORGATO, J. C.; ROSA, D. B. C. J.; PEREIRA, S. T. S. Utilização de agentes geleificantes alternativos no cultivo in vitro de *Dendrobium nobile* Lindl. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v. 10, n. 19, p. 1832-1838, 2014.

SOUZA, A. da S.; SOUZA, F. V. D.; SILVEIRA, D. G.; SILVA, K. M. da. Organização e implementação de um laboratório de cultura de tecidos de plantas. In: SOUZA, A. da S.; JUNGHANS, T. G. (Ed.). **Introdução à micropropagação de plantas**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 2006. 152 p. Capítulo 3: p. 53-78, 2006.



Agroindústria Tropical



MINISTÉRIO DA
AGRICULTURA, PECUÁRIA
E ABASTECIMENTO



PÁTRIA AMADA
BRASIL
GOVERNO FEDERAL